



①⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

①⑫ **Offenlegungsschrift**
①⑩ **DE 196 40 970 A 1**

②① Aktenzeichen: 196 40 970.5
②② Anmeldetag: 4. 10. 96
④③ Offenlegungstag: 16. 4. 98

⑤① Int. Cl.⁶:
C 07 K 5/06
C 07 K 5/08
C 07 K 5/10
A 61 K 38/05
A 61 K 38/06
A 61 K 38/07
A 61 K 31/44
A 61 K 31/47
A 61 K 31/505
A 61 K 31/35
C 07 D 487/04
C 07 D 401/04

DE 196 40 970 A 1

// (C07D 487/04, 239:00,209:00)(C07D 401/04,215:56,209:44) (C07D 491/22,221:00, 209:00,311:00)

⑦① Anmelder:
Bayer AG, 51373 Leverkusen, DE

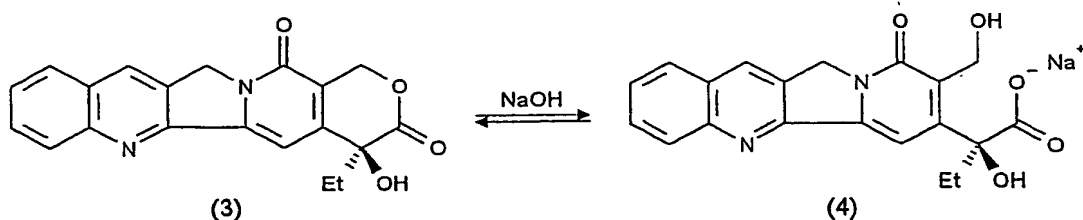
⑦② Erfinder:
Lerchen, Hans-Georg, Dr., 51375 Leverkusen, DE;
Bruch, Karsten von dem, Dr., 51375 Leverkusen, DE;
Baumgarten, Jörg, Dr., 42115 Wuppertal, DE;
Sperzel, Michael, Dr., 42275 Wuppertal, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

⑤④ Modifizierte Cytostatika

⑤⑦ Die vorliegende Erfindung betrifft Konjugate aus Cyto-
statika und N-Thiocarbonyl-modifizierten Aminosäuren
bzw. Peptiden, Verfahren zu deren Herstellung und ihre
Verwendung als Arzneimittel, insbesondere im Zusam-
menhang mit Krebserkrankungen.

DE 196 40 970 A 1



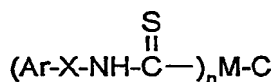
Etwa 20 Jahre später wurde gefunden, daß die biologische Aktivität auf eine Enzyminhibition der Topoisomerase I zurückzuführen ist. Seither wurden die Forschungsaktivitäten wieder verstärkt, um verträglichere und in vivo wirksame Camptothecin-Derivate zu finden.

Zur Verbesserung der Wasserlöslichkeit wurden z. B. Salze von A-Ring- und B-Ring-modifizierten Camptothecin-Derivaten sowie von 20-O-Acyl-Derivaten mit ionisierbaren Gruppen beschrieben (Vishnuvajjala et al., US 4 943 579). Das letztere Prodrug-Konzept wurde später auch auf modifizierte Camptothecin-Derivate übertragen (Wani et al., WO 96/02546). Die beschriebenen 20-O-Acyl-Prodrugs haben allerdings in vivo eine sehr kurze Halbwertszeit und werden sehr schnell zum Grundkörper gespalten.

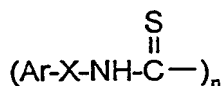
Wir fanden nun, daß die Modifizierung von Cytostatika wie z. B. Batracylin, antitumoraktive Chinolone (wie z. B. Chinolon-a) oder Camptothecin bzw. Camptothecin-Derivate mit N-thiocarbonyl-modifizierten Aminosäuren zu neuen Verbindungen mit überraschenden, hochinteressanten Eigenschaften führt:

- Die so erhaltenen Konjugate sind synthetisch gut zugänglich und zeigen in vitro eine ähnlich hohe Aktivität gegenüber verschiedenen Tumorzelllinien und Tumoxenografts wie das zugrundeliegende Toxophor.
- In Abhängigkeit von der Zusammensetzung der N-thiocarbonyl-modifizierten Aminosäuren zeigen die erfindungsgemäßen Konjugate im Vergleich zu den zugrundeliegenden Cytostatika wesentlich verbesserte Löslicheitseigenschaften.
- Sie weisen gegenüber den zugrundeliegenden Toxophoren eine höhere Verträglichkeit und Tumorselektivität auf.
- In vivo zeigen sie eine gute bis sehr gute therapeutische Aktivität.
- Sie sind in extrazellulärem Medium und in Blut wesentlich stabiler als die zuvor beschriebenen reinen Aminosäure-Prodrugs von Batracylin, Chinolonen oder von Camptothecin-Derivaten.
- Im Fall von 20-O-Acylierungen von Camptothecin-Derivaten wird durch die esterartige Verknüpfung der Carrier-Reste mit der 20-Hydroxygruppe der für die Wirkung wichtige Lactonring stabilisiert.

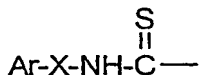
Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (I)



worin



für 1 bis n' gleiche oder voneinander verschiedene Gruppierungen



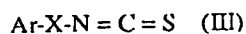
steht, wobei n eine Zahl 1 bis n' bedeutet und n' der maximalen Zahl möglicher Anknüpfungsstellen von M entspricht, worin

Ar für einen Arylrest mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen steht, der zusätzlich zu X gegebenenfalls ein- oder mehrfach substituiert sein kann durch Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Alkoxy-carbonyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Carboxy, Carboxyalkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Cyano, Nitro, Isocyanato, Isothiocyano, Halogen, Sulfonyl und/oder Sulfonamid,

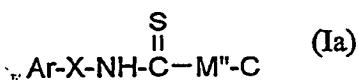
X für eine direkte Einfachbindung oder für Alkylen mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,

M für ein Mono-, Di-, Tri- oder Tetrapeptid steht, das über die α -Aminogruppe und/oder über Amino- und/oder Hydroxygruppen der Seitenketten mit den n gleichen oder voneinander verschiedenen Gruppierungen

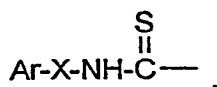
worin C die oben angegebene Bedeutung hat und M' für einen Rest M steht, der an den gewünschten Verknüpfungsstellen Wasserstoffatome trägt und dessen übrige potentielle Verknüpfungsstellen durch Schutzgruppen blockiert sind, mit Verbindungen der allgemeinen Formel (III)



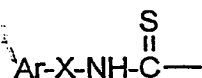
in geeigneten Lösemitteln in Gegenwart einer Base zu Verbindungen der allgemeinen Formel (Ia)



umsetzt, worin Ar, X und C die oben angegebenen Bedeutungen haben und M'' für einen Rest M steht, dessen weitere potentielle Verknüpfungsstellen durch Schutzgruppen blockiert sind, und im Fall der Einführung weiterer Gruppen



die sich von der bzw. den zunächst eingeführten unterscheiden, die entsprechenden Schutzgruppen gegebenenfalls selektiv von den Verbindungen der Formel (Ia) abspaltet, diese in der oben angegebenen Weise mit weiteren Verbindungen der allgemeinen Formel (III), die sich von den zunächst eingeführten unterscheiden, umsetzt und gegebenenfalls diese Reaktionssequenz zu Einführung weiterer von den eingeführten Resten verschiedener Reste



wiederholt, und daß man verbleibende Schutzgruppen gegebenenfalls abspaltet.

Die erfindungsgemäßen Konjugate können beispielsweise hergestellt werden durch Verknüpfung von Hydroxy- oder Aminogruppen tragenden Cytostatika-Derivaten (z. B. Batracylin, Chinolone oder Camptothecine) mit aktivierten Carboxylkomponenten, die ihrerseits Teile von geschützten Aminosäuren, Peptiden oder N-thiocarbonyl-modifizierten Peptiden darstellen können.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel (II) sind zugänglich, indem man nach üblichen Methoden der Peptidchemie gegebenenfalls geschützte Aminosäurebausteine an Amino- oder Hydroxyfunktionen von C anknüpft und gegebenenfalls durch schrittweise Einführung weiterer Aminosäurebausteine eine Peptidkette aufbaut. Alternativ können auch gegebenenfalls Schutzgruppen tragende Peptid-Bausteine nach üblichen Methoden mit C verknüpft werden.

Die Reaktionen können bei verschiedenen Druck- und Temperaturverhältnissen, beispielsweise 0,5 bis 2 bar, bzw. -30 bis +100°C, in geeigneten Lösungsmitteln wie Dimethylformamid (DMF), Tetrahydrofuran (THF), Dichlormethan, Chloroform, niederen Alkoholen, Acetonitril, Dioxan, Wasser oder in Gemischen der genannten Lösungsmittel durchgeführt werden. In der Regel sind Reaktionen in DMF oder THF/Dichlormethan bei Normaldruck und bei einer Temperatur von 0 bis 60°C, insbesondere bei etwa Raumtemperatur, bevorzugt.

Für die Aktivierung der Carboxylgruppen kommen die in der Peptidchemie bekannten Kupplungsreagenzien wie sie z. B. in Jakubke/Jeschkeit: Aminosäuren, Peptide, Proteine; Verlag Chemie 1982 oder Tetrahedr. Lett. 34, 6705 (1993) beschrieben sind, in Frage. Bevorzugt sind beispielsweise Säurechloride, N-Carbonsäureanhydride oder gemischte Anhydride.

Weiterhin bevorzugt zur Aktivierung der Carboxylgruppen ist die Bildung von Addukten mit Carbodiimiden z. B. N,N'-Diethyl-, N,N'-Diisopropyl-, N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid, N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethyl-carbodiimid-Hydrochlorid, N-Cyclohexyl-N'-(2-morpholinoethyl)-carbodiimid-metho-p-toluolsulfonat, oder Carbonylverbindungen wie Carbonyldiimidazol, oder 1,2-Oxazoliumverbindungen wie 2-Ethyl-5-phenyl-1,2-oxazolium-3-sulfat oder 2-tert-Butyl-5-methyl-isoxazolium-perchlorat, oder Acylaminoverbindungen wie 2-Ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydrochinolin, oder Propanphosphonsäureanhydrid, oder Isobutylchloroform, oder Benzotriazolyl-oxy-tris(dimethylamino)phosphonium-hexafluorophosphat, 1-Hydroxybenzotriazol oder Hydroxysuccinimidester.

Als Basen können beispielsweise Triethylamin, Hünig-Base, Ethyl-diisopropylamin, Pyridin, N,N-Dimethylaminopyridin oder andere eingesetzt werden.

Als Schutzgruppen für eventuelle weitere reaktive Funktionen im Cytostatikum-Teil oder für Drittfunktionen der Aminosäuren können die in der Peptidchemie bekannten Schutzgruppen beispielsweise vom Urethan-, Alkyl-, Acyl-, Ester- oder Amid-Typ eingesetzt werden.

Aminoschutzgruppen im Rahmen der Erfindung sind die üblichen in der Peptid-Chemie verwendeten Aminoschutzgruppen.

Hierzu gehören bevorzugt Benzyloxycarbonyl, (Cbz) 3,4-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 3,5-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 2,4-Dimethoxybenzyloxycarbonyl, 4-Methoxybenzyloxycarbonyl, 4-Nitrobenzyloxycarbonyl, 2-Nitroben-

Beispiel	IC ₅₀ / μ M SW 480	IC ₅₀ / μ M HT 29	IC ₅₀ / μ M B16F10
2.1)	20	9	9
2.2)	15	6	4
2.3)	0,9	0,7	0,2
2.4)	0,8	0,9	1
2.5)	200	> 200	200
2.6)	0,2	0,3	0,06
2.8)	0,2	0,1	0,1
2.9)	2	2	1
2.10)	2	2	0,4
2.11)	60	150	30
3)	3	2	1
4.1)	0,01	0,02	0,1
4.2)	0,07	0,06	0,3
4.3)	0,02	0,02	0,1
4.4)	0,3	0,2	0,6
4.5)	0,3	0,2	0,8
4.6)	0,2	0,15	0,5
4.7)	0,1	0,06	0,3
4.8)	0,3	0,15	0,8
4.9)	0,02	0,015	0,2
4.10)	0,02	0,01	0,2
4.11)	0,06	0,03	0,2

2. Hämatopoetische Aktivität von Konjugaten im Vergleich zum zugrundeliegenden Wirkstoff

Material und Methoden

Knochenmarkszellen wurden aus dem Femur der Maus gespült. 10⁵-Zellen werden in McCoy 5A-Medium (0,3% Agar) zusammen mit rekombinanten murinen GM-CSF (Genzyme; Stammzellen-Kolonienbildung) und den Substanzen (10⁻⁴ bis 100 μ g/ml) bei 37°C und 7% CO₂ inkubiert. 7 Tage später wurden die Kolonien (<50 Zellen) und Kluster (17–50 Zellen) ausgezählt.

Tabelle 3

Therapie	Dosis [mg/kg/Tag]	Überlebens- zeit [Tage]	Zahl der Tumore [Tag 21]	relatives Tumervolumen an Tag 21 [% des Tags 0]	relatives Körpergewicht an Tag 21 [% des Tags 0]
Kontroll- gruppe	-	>39 35 35 >18 >35	16	1137	111,6
Beispiel 4.4)	6,25 (MTD)	7 >43 >43 >43 >43	9	0,2	113,0
Beispiel 4.4)	3,125	>43 >43 >43 >43	7	69,5	105,8

Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen sowohl in-vitro als auch in-vivo eine überraschen starke cytotoxische Wirksamkeit gegenüber verschiedenen Tumoren, insbesondere solchen der Lunge und des Dickdarms, verbunden mit einer großen Selektivität gegenüber nicht malignen Zellen auf.

Sie eignen sich daher zur Behandlung von Krebserkrankungen, insbesondere von solchen der Lunge und des Dickdarms.

Zur vorliegenden Erfindung gehören pharmazeutische Zubereitungen, die neben nicht-toxischen, inerten pharmazeutisch geeigneten Trägerstoffen eine oder mehrere erfindungsgemäße Verbindungen enthalten oder die aus einem oder mehreren erfindungsgemäßen Wirkstoffen bestehen, sowie Verfahren zur Herstellung dieser Zubereitungen.

Der oder die Wirkstoffe können gegebenenfalls in einem oder mehreren der oben angegebenen Trägerstoffe auch in mikroverkapselter Form vorliegen.

Die therapeutisch wirksamen Verbindungen sollen in den oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen vorzugsweise in einer Konzentration von etwa 0,1 bis 99,5, vorzugsweise von etwa 0,5 bis 95 Gew.-%, der Gesamtmischung vorhanden sein.

Die oben aufgeführten pharmazeutischen Zubereitungen können außer den erfindungsgemäßen Verbindungen auch weitere pharmazeutische Wirkstoffe enthalten.

Im allgemeinen hat es sich sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin als vorteilhaft erwiesen, den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe in Gesamtmengen von etwa 0,5 bis etwa 500, vorzugsweise 5 bis 100 mg/kg Körpergewicht je 24 Stunden, gegebenenfalls in Form mehrerer Einzelgaben, zur Erzielung der gewünschten Ergebnisse zu verabreichen. Eine Einzelgabe enthält den oder die erfindungsgemäßen Wirkstoffe vorzugsweise in Mengen von etwa 1 bis etwa 80, insbesondere 3 bis 30 mg/kg Körpergewicht.

Synthesebeispiele

Alle Thiocarbonyl-Aminosäure- bzw. Thiocarbonyl-Peptidkonjugate, die Gegenstand dieser Erfindung sind, werden nach der folgenden allgemeinen Vorschrift synthetisiert:

Eine Lösung von 1 mmol des zugrundeliegenden Aminosäure- bzw. Peptidkonjugats in 50 ml absolutem Dimethylformamid wird mit je 1,1 mmol des entsprechenden Isothiocyanats pro freier Aminogruppe versetzt. Nach Zugabe von 1,74 ml (10 mmol) Ethyldiisopropylamin wird der Ansatz bei Raumtemperatur gerührt bis sich im Dünnschichtchromatogramm kein Aminosäure- bzw. Peptidkonjugat mehr nachweisen läßt, längstens jedoch 16 h. Man engt i. Vak. ein und reinigt den Rückstand nach Trocknung i. Hochvak. durch Flash-Chromatographie an Kieselgel z. B. mit einem Ethylacetat/Petrolether- oder einem Dichlormethan/Methanol-System. Auch mehrmaliges Umfällen aus Dichlormethan/Methanol 1 : 1 (v/v) mit Diethylether ergibt vielfach reine Produkte.

Verbleibende Schutzgruppen werden anschließend in einer zweiten Stufe nach literaturbekannten Verfahren entfernt (eine Fluorenyl-9-methoxycarbonyl-Gruppe z. B. mit Piperidin in absolutem Dimethylformamid bei Raumtemperatur; eine tert-Butoxycarbonyl-Gruppe z. B. mit Trifluoressigsäure in absolutem Dichlormethan bei Raumtemperatur).

Die entsprechenden Isothiocyanate sind im Chemikalienfachhandel zu erwerben oder werden nach literaturbekannten Methoden synthetisiert.

DE 196 40 970 A 1

I.2.b) N-[D-Alanyl]-batracylin

Verbindung I.2.a (11,4 g, 25 mmol) wird in einer 33%-igen Lösung von Bromwasserstoff in Eisessig (100 ml) gelöst. Nach 30 min. bei Raumtemperatur wird der Ansatz im Vakuum auf 30 ml eingedampft und anschließend unter kräftigem Rühren in gesättigte Natriumhydrogencarbonat-Lösung (1000 ml) gegossen. Man rührt für 10 min. weiter, filtriert ab und wäscht mit Wasser, wenig Isopropanol und Diethylether. Das Produkt fällt in gelben Kristallen (7,87 g, 98%) an [DC (Ethylacetat): $R_f = 0,06$; Schmp. = 267°C (Zers.)].

I.2.c) N-[N-(tert-Butoxycarbonyl)-seryl-D-alanyl]-batracylin

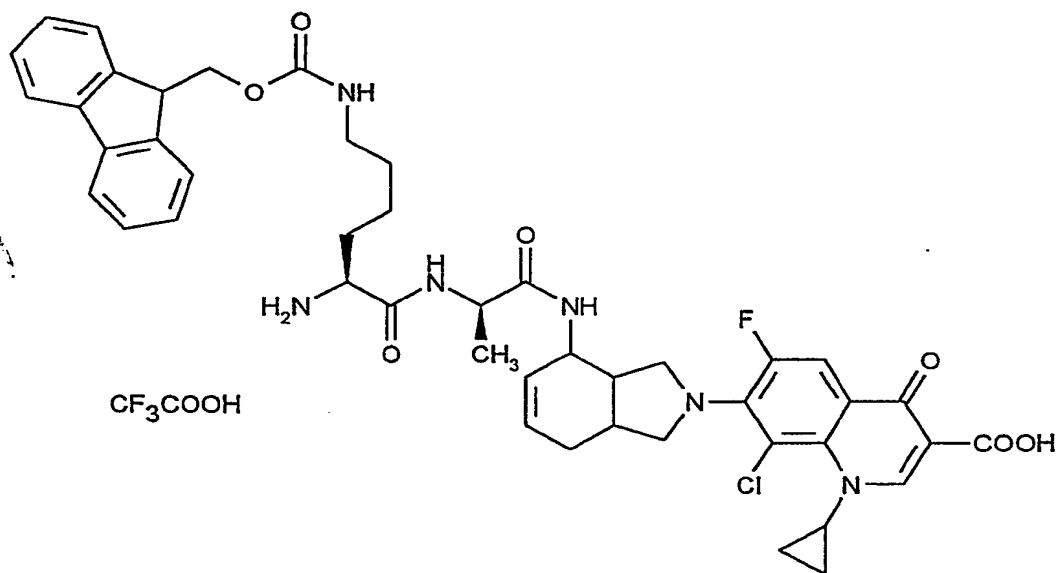
Darstellung in Analogie zu Beispiel I.1.a aus N-(tert-Butoxycarbonyl)-serin und N-[D-Alanyl]-batracylin (Beispiel I.2.b); Ausb.: 77%.

I.2) N-[Seryl-D-alanyl]-batracylin, Trifluoracetat

Darstellung in Analogie zu Beispiel I.1 aus Verbindung I.2.c; Ausb.: 98%.

Beispiel 1.3

N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-D-alanyl]-chinolon-a, Trifluoracetat



I.3.a) N-[N-(tert-Butoxycarbonyl)-D-alanyl]-chinolon-a

N-(tert-Butoxycarbonyl)-D-alanin (3,6 g, 19,2 mmol) und 2-Isobutoxy-1-isobutoxycarbonyl-1,2-dihydro-chinolin (5,8 g, 19,2 mmol) werden in 200 ml Dimethylformamid gelöst. Nach 8 h Rühren bei Raumtemperatur setzt man Chinolon-a (4 g, 9,6 mmol) und Ethyldiisopropylamin (3,3 ml) zu und behandelt den Ansatz 10 h mit Ultraschall. Man engt ein, nimmt den Rückstand in Dichlormethan auf und fällt mit Ether. Nach Filtration, Waschen mit Ether und Trocknen im Hochvakuum erhält man 4,58 g (81%) vom Zielprodukt, welches ohne weitere Reinigung umgesetzt wird.

I.3.b) N-[D-Alanyl]-chinolon-a, Trifluoracetat

4,56 g (7,75 mmol) der Verbindung aus obigem Beispiel werden in einer Mischung aus Dichlormethan (50 ml) und wasserfreier Trifluoressigsäure (50 ml) bei 0°C gelöst und 1 h bei dieser Temperatur gerührt. Man engt ein, destilliert mit Dichlormethan nach und fällt den Rückstand aus Methanol mit Diethylether um. Man erhält 4,07 g (87%) des kristallinen Zielproduktes [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2): $R_f = 0,34$].

I.3.c) N-[N^α-(tert-Butoxycarbonyl)-N^ε-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-D-alanyl]-chinolon-a

N^α-(tert-Butoxycarbonyl)-N^ε-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysin (1,57 g, 3,36 mmol) wird in Dimethylformamid (25 ml) gelöst und bei 0°C mit N-Hydroxysuccinimid (600 mg, 5,04 mmol) und N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid (820 mg, 4,03 mmol) versetzt. Nach 3 h filtriert man den entstandenen Harnstoff ab, gibt zum Filtrat 1,5 g (2,86 mmol) der Verbindung aus Beispiel I.3.b) und rührt 16 h bei Raumtemperatur. Restlicher Harnstoff wird abfiltriert und das Filtrat durch Flash-Chromatographie [Dichlormethan/Methanol 97,5 : 2,5 → 90 : 10] gereinigt. Anschließend fällt man aus

DE 196 40 970 A 1

1.1) N-[N-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-D-alanyl]batracylin

Edukt: N-(D-alanyl)-batracylin
Ausb.: 76% [DC (Ethylacetat/Eisessig 100 : 1): $R_f = 0,53$; Schmp.: 185°C]

1.2) N-[N^α-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl]-batracylin

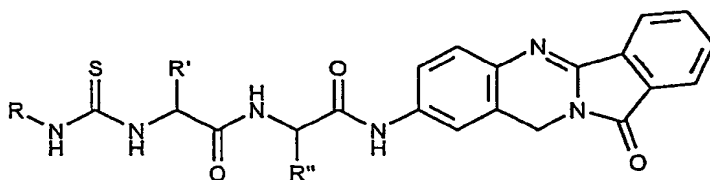
Edukt: N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl]-batracylin, Trifluoracetat
Ausb.: 68% über 2 Stufen [DC (Dichlormethan/Methanol 5 : 1): $R_f = 0,31$; Schmp.: 162°C (Zers.)]

1.3) N-[N^ε-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl]-batracylin

Edukt: N-[N^α-(tert-Butoxycarbonyl)-lysyl]-batracylin
Ausb.: 71% über 2 Stufen [DC (Dichlormethan/Methanol 5 : 1): $R_f = 0,30$; Schmp.: 162°C (Zers.)]

Beispiele 1.4–1.8

Konjugate des Batracylins mit zwei Aminosäuren; allgemeine Formel



1.4) N-[N^α-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl-D-alanyl]batracylin

Edukt: N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-D-alanyl]-batracylin, Trifluoracetat,
Ausb.: 70% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2): $R_f = 0,36$]

1.5) N-[N-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-seryl-D-alanyl]batracylin

Edukt: N-(Seryl-D-alanyl)-batracylin, Trifluoracetat
Ausb.: 45% [DC (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17%ig 15 : 2 : 0,2): $R_f = 0,32$]

1.6) N-[N-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-glutamyl-D-alanyl]batracylin

Edukt: N-(Glutamyl-D-alanyl)-batracylin
Ausb.: 70% [DC (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17%ig 15 : 8 : 0,8): $R_f = 0,68$]

1.7) N-[N^α,N^ε-bis-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysylseryl]-batracylin

Edukt: N-(Lysyl-seryl)-batracylin, Di-Trifluoracetat
Ausb.: 46% [DC (Dichlormethan/Methanol/Ammoniak 17%ig 15 : 3 : 0,2): $R_f = 0,24$; Schmp.: 155–157°C (Zers.)]

1.8) N-[N^α-[N^α,N^ε-bis-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl]α,β-diaminopropionyl]-batracylin

Edukt: N-[N^α-Lysyl-N^β-(fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-α,β-diaminopropionyl]-batracylin, Di-Trifluoracetat
Ausb.: 39% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2): $R_f = 0,54$]

DE 196 40 970 A 1

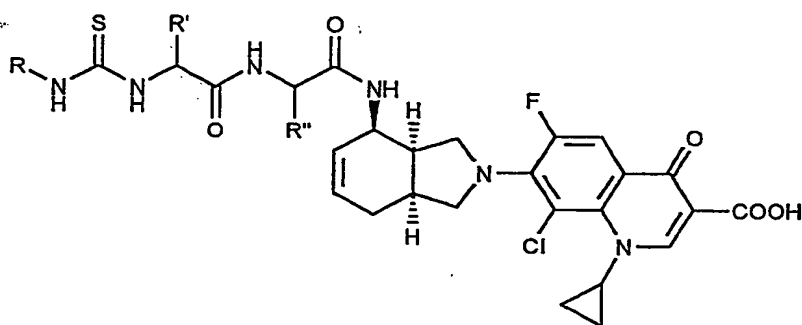
Ausb.: 62% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 10 : 3 : 1,5): $R_f = 0,6$]

2.10) N-[N^α-(Phenyl-methyl-amino-thiocarbonyl)-lysyl]-chinolon-a

Edukt: N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl]-chinolon-a, Trifluoracetat
Ausb.: 59% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2): $R_f = 0,44$]

Beispiel 2.11

Konjugate des Chinolons-a mit zwei Aminosäuren; allgemeine Formel

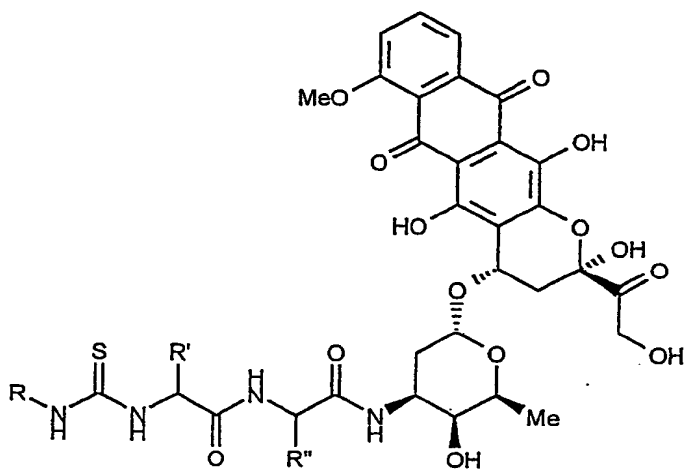


2.11) N-[N^α-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl-D-alanyl] chinolon-a

Edukt: N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-D-alanyl]-chinolon-a Trifluoracetat
Ausb.: 53% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2) $R_f = 0,33$]

Beispiel 3

Konjugate des Doxorubicins; allgemeine Formel



3) N-[N^α-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl-alanyl]doxorubicin

Edukt: N-[N^ε-(Fluorenyl-9-methoxycarbonyl)-lysyl-alanyl]-doxorubicin, Trifluoracetat
Ausb.: 46% über 2 Stufen [DC (Acetonitril/Wasser/Eisessig 5 : 1 : 0,2): $R_f = 0,2$; FAB-MS: $m/z = 894 (M+H)^+$]

chlorid überführt. Die resultierende Lösung wird anschließend lyophilisiert.

4.9) 20-O-[N^α,N^ε-bis-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysylalanyl]-camptothecin

Edukt: 20-O-(Lysyl-alanyl)-camptothecin, Di-Trifluoracetat
Ausb.: 64% [DC (Acetonitril/Wasser 10 : 1): R_f = 0,72]

5

4.10) 20-O-[N^α,N^ε-bis-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysyl-D-alanyl]-camptothecin

Edukt: 20-O-(Lysyl-D-alanyl)-camptothecin, Di-Trifluoracetat
Ausb.: 77% [DC (Acetonitril/Wasser 20 : 1): R_f = 0,40; FAB-MS: m/z = 850 (M+H)⁺]

10

4.11) 20-O-[N^α,N^ε-bis-(4-Hydroxy-phenylamino-thiocarbonyl)-lysylphenylalanyl]-camptothecin

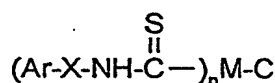
Edukt: 20-O-(Lysyl-phenylalanyl)-camptothecin, Di-Trifluoracetat
Ausb.: 84% [DC (Acetonitril/Wasser 20 : 1): R_f = 0,6]

15

Patentansprüche

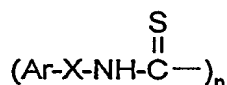
1. Die Erfindung betrifft Verbindungen der allgemeinen Formel (I)

20



25

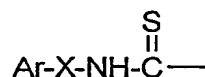
worin



30

für 1 bis n' gleiche oder voneinander verschiedene Gruppierungen

35



40

steht, wobei n eine Zahl 1 bis n' bedeutet und n' der maximalen Zahl möglicher Anknüpfungsstellen von M entspricht,

worin

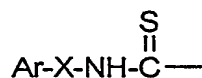
Ar für einen Arylrest mit bis zu 10 Kohlenstoffatomen steht, der zusätzlich zu X gegebenenfalls ein- oder mehrfach substituiert sein kann durch Alkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Alkoxy mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Alkoxy-carbonyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Carboxy, Carboxylalkyl mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen, Cyano, Nitro, Isocyanato, Isothiocyanato, Halogen, Sulfonyl und/oder Sulfonamid,

45

X für eine direkte Einfachbindung oder für Alkylen mit bis zu 6 Kohlenstoffatomen steht,

M für ein Mono-, Di-, Tri- oder Tetrapeptid steht, das über die α-Aminogruppe und/oder über Amino- und/oder Hydroxygruppen der Seitenketten mit den n gleichen oder voneinander verschiedenen Gruppierungen

50



55

verknüpft ist, wobei weitere funktionelle Gruppen des Peptids gegebenenfalls Schutzgruppen tragen können, und C für einen Rest eines Cytostatikums oder eines Cytostatikum-Derivats steht, das über eine Aminofunktion oder über ein Sauerstoffatom mit M verknüpft ist,

sowie deren Stereoisomere, Stereoisomerengemische und Salze.

60

2. Verbindungen gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß

Ar für einen Phenylrest steht, der para-ständig zu X noch Hydroxy, Carboxy, Isothiocyanato oder Halogen tragen kann,

sowie deren Stereoisomeren, Stereoisomerengemische und Salze.

3. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß

65

X für eine Einfachbindung oder für Methylen steht,

sowie deren Stereoisomeren, Stereoisomerengemische und Salze.

4. Verbindungen gemäß einem der Ansprüche 1. 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß